

## 57

## Expositions aux perturbateurs endocriniens

L'évaluation des risques liés aux expositions aux mélanges de polluants ou aux contaminants de l'environnement d'origine anthropique ou naturelle est rendue souvent très difficile notamment en raison du manque de données sur les expositions.

Les progrès accomplis ces vingt dernières années dans le domaine de la chimie analytique ont permis de rendre détectables et quantifiables dans les principaux compartiments environnementaux un très grand nombre de molécules issues de la chimie. Les techniques d'extraction et de purification modernes favorisent l'analyse de traces et les méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse sont devenues particulièrement sensibles et sélectives (Pichon et coll., 2001). En conséquence, les limites de détection et de quantification ayant très nettement diminué, la liste des contaminants détectés dans l'eau, l'air ou les aliments ne cesse de s'allonger. Les méthodes disponibles permettent maintenant à de nombreux laboratoires d'accéder assez aisément, mais non sans un coût significatif, aux principales familles de polluants. La fiabilité de mesures est largement dépendante des conditions d'assurance qualité et de contrôle qualité mises en œuvre autour des techniques analytiques.

Des difficultés subsistent néanmoins vis-à-vis de l'extraction des molécules polaires, de l'analyse de traces sur les solides ou de la nanopollution de l'air. Aucune stratégie analytique validée n'existe pour affronter le problème que constitue déjà l'impact sanitaire de la dispersion environnementale des nanomolécules et nanotechnologies.

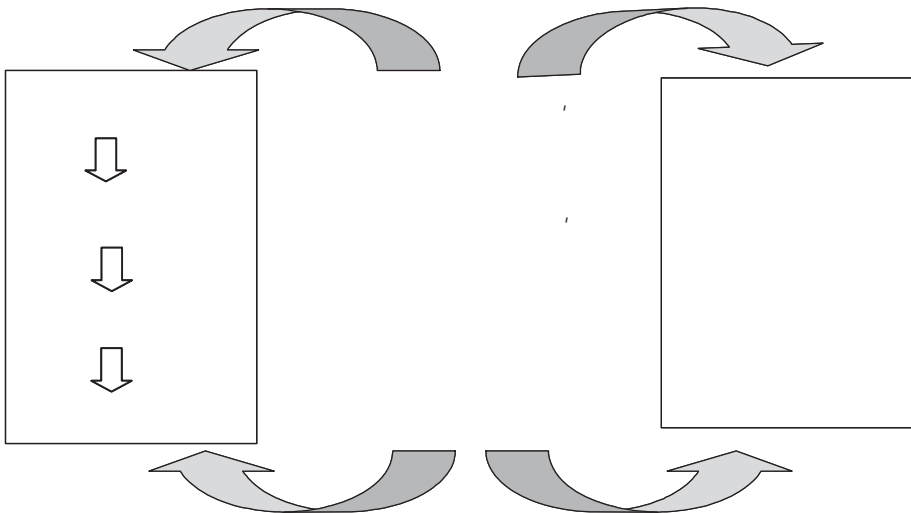
L'interprétation qui doit alors être donnée aux résultats des analyses, dans la démarche d'évaluation des risques sanitaires ou environnementaux, est devenue complexe car il est indispensable de prendre en compte non seulement les effets des molécules individualisées mais impérativement ceux liés aux mélanges de polluants détectés à des concentrations de l'ordre du ppb (*part per billion*) ou du ppt (*part per trillion*).

Parallèlement aux progrès des méthodes de détection physico-chimiques, les méthodes globales d'évaluation des effets biologiques se sont développées

permettant *in vivo* ou *in vitro* de mesurer les niveaux de pollutions toxiques notamment dans les milieux aquatiques. Des démarches parallèles sont apparues entre l'écotoxicologie et la pharmaco-toxicologie qui tendent à se rejoindre depuis quelques années. Seuls les tests biologiques sont en mesure de donner une réponse concernant les éventuels effets additifs, synergiques ou antagonistes des molécules en mélange. Les recherches portent sur les voies de métabolisation, de transfert et d'interaction au niveau cellulaire des molécules et mélanges de molécules indésirables.

## Évaluation de la contamination environnementale

Les études portant sur l'évaluation de la contamination environnementale, doivent impérativement suivre un raisonnement global portant aussi bien sur l'analyse des différentes sources d'émission que sur les transferts inter-compartiments. L'origine des dangers suit le schéma complexe du cycle de vie environnemental des produits (figure 57.1).



**Figure 57.1 : Schéma de la diffusion des dangers dans les divers cycles de vie des produits de consommation**

Toutes les activités humaines génèrent des déchets et contaminations et, lorsque l'inquiétude porte sur des nano ou microtraces de substances chimiques, il n'existe pas d'activité industrielle, agricole, de transport ou domestique qui puisse garantir une absence de relargage environnemental. Rappelons toutefois que tous les xénobiotiques toxiques ne sont pas nécessairement d'origine synthétique. Il n'est donc plus possible de suggérer des cloisonnements

simplistes entre la pollution des eaux ou des sols ou entre les activités de type agricoles, industrielles ou urbaines et seule l'analyse complète de l'exposition de l'individu considéré prend un sens.

### Nature des émissions

Les pollutions ponctuelles sont liées en particulier aux rejets des effluents des stations d'assainissement des eaux usées urbaines ou industrielles, aux rejets des collecteurs d'eaux pluviales, aux déversoirs des eaux d'orage, aux rejets des centrales de production d'électricité et de retraitement des déchets nucléaires, aux lixiviats des décharges d'ordures ou aux zones ponctuelles d'épandage des boues ou déjections animales contaminées. Sont également considérées dans cette catégorie les zones d'impact des émissions gazeuses industrielles et des incinérateurs. À l'échelle individuelle, il sera nécessaire de considérer certains postes de travail industriels mal équipés ou protégés. Des accidents ou des déversements volontaires sont également à inscrire au tableau de ce genre d'émission en particulier concernant les transports (maritime, routier, ferroviaire, eaux pluviales des aéroports).

Les pollutions diffuses sont, par nature, plus difficiles à caractériser.

Les sols sont essentiellement influencés par des épandages volontaires (boues, pesticides, engrais), des décharges d'ordures et des retombées des émissions aériennes.

Les eaux superficielles ou souterraines reçoivent le résidu du lessivage des sols et des surfaces imperméabilisées par la pluie (pesticides, hydrocarbures, métaux, azote, phosphore...), les transferts par l'air et les aérosols. Elles transportent des éléments minéraux présents naturellement dans les sols rencontrés (arsenic, fluor, radon...) ainsi que des molécules dissoutes, des colloïdes, des particules inertes ou vivantes et des complexes.

L'air dilue et diffuse une grande quantité de molécules parmi les plus volatiles et résistantes aux rayonnements ultra-violet et leurs produits de transformation ainsi que les aérosols et les particules contaminés. L'air intérieur, non seulement sur le lieu de travail mais aussi dans les transports, les établissements recevant du public et dans l'habitat, s'est révélé une source importante d'exposition à des pollutions diverses. Le tabagisme passif est un exemple de ce type de contamination.

Ainsi, concernant les expositions, c'est le raisonnement en budget espace-temps qui importe puisque les organismes seront soumis tout au long de chaque journée à des apports de contaminants très variés par ingestion, inhalation, adsorption ou contact.

Concernant les produits industriels ou manufacturés les multiples transferts se produisent via la grande consommation des produits d'usage domestique

(produits d'entretien, mobilier, colles et peintures, pesticides...), les substances et matériels à usage professionnel sur le lieu de travail, les médicaments, les produits de diagnostic et les cosmétiques, l'alimentation (pesticides, nitrates, toxines ...) et via tous les déchets contaminant les sols, les eaux et l'air.

Concernant l'eau potable, les filières de traitement qui utilisent des ressources d'eaux superficielles largement contaminées (rivières, retenues, lacs), réduisent déjà fortement (dans les zones géographiques qui en ont les moyens) la charge polluante pour respecter les normes en vigueur en matière de pesticides et matières organiques. Néanmoins, les textes réglementaires (Directives européennes et Code de la santé publique) ne peuvent imposer des normes pour l'ensemble des molécules suspectées d'effets indésirables. Le coût analytique correspondant serait immense et les contrôles correspondants ne seraient pas effectués. Par ailleurs, même si le contrôle de la qualité des eaux potables est, en Europe au moins, effectué au point d'usage, l'eau rendue conforme aux normes en sortie de filière de traitement va ensuite subir un transport et un stockage au contact de matériaux pouvant relarguer des molécules à l'état de trace (plomb, plastifiant, cuivre). Cette évolution de la contamination des produits de consommation se retrouve également pour les produits alimentaires pouvant être contaminés au niveau de la production par l'irrigation et les divers intrants agricoles mais également au cours de la distribution et des stockages au contact des emballages jusqu'au moment de la consommation.

L'accroissement de la population urbaine mondiale conduit inévitablement à une concentration géographique des rejets des eaux usées sur un faible nombre d'usines d'assainissement qui déversent leurs effluents dans les rivières ou la mer constituant ainsi des sites de contamination majeurs. La chaîne alimentaire se charge ensuite de disperser largement les dangers au sein de la biosphère (Prevedouros et coll., 2004). Par nature, les traitements d'assainissement des eaux usées sont essentiellement fondés sur des mécanismes de biodégradation développés pour métaboliser des rejets organiques naturels. La chimie moderne couplée à la notion de « tout à l'égout » incitant les individus à jeter tous leurs déchets liquides sans distinction dans les évacuations a modifié la situation puisque la majorité des filières de traitement d'assainissement (lorsqu'elles existent et qu'elles sont adaptées et bien gérées) ne sont pas capables d'éliminer certaines molécules issues de la chimie moderne à un niveau dénué de tout risque biologique. Il en va de même avec les boues issues du traitement et non incinérées. La réutilisation des eaux usées pour l'irrigation ou même pour la production d'eau potable comme en Namibie, pose le problème de la fiabilité et de l'efficacité des filières technologiques d'assainissement pour ne pas exposer les consommateurs à des niveaux de pollution inacceptables. La ville de Paris produit une petite partie de son eau potable à partir d'eau de Seine prélevée à un point situé en aval du rejet d'une très grosse station d'épuration des réseaux d'égouts de l'agglomération parisienne.

## Liste de polluants

Les caractéristiques physico-chimiques des molécules vont largement influencer leur devenir environnemental. La diffusion sera liée en particulier à la volatilité, le coefficient de partage octanol/eau, l'hydrosolubilité, la biodégradabilité, la stabilité à la lumière caractérisant le devenir au sein des hydrosystèmes, la pénétration et la diffusion dans les sols, l'accumulation dans la chaîne alimentaire et la métabolisation. Le devenir au sein des systèmes de traitement et de dépollution est dépendant des technologies disponibles qui sont basées sur l'adsorption (charbon actif, résines, floculation), l'oxydation (rayonnements UV, ozone, chlore, couplage avec des catalyseurs...), la destruction thermique, la biodégradation (boues activées, biofilms sur supports filtrants, lagunes...) et la rétention membranaire (osmose inverse, nanofiltration).

Le classement des molécules en cause peut se faire selon plusieurs critères :

- par famille d'usage : combustibles, pesticides, plastifiants, solvants, médicaments, cosmétiques, détergents... ;
- par famille chimique : organochlorés, hydrocarbures, métaux... ;
- par effets toxique ou biologique : perturbateur endocrinien, génotoxique, cancérigène, mutagène, allergisant... ;
- par action chimique de la molécule (alkylant, agoniste de récepteurs... ) ;
- par effet cellulaire (nécrose, apoptose, génotoxicité, troubles de la réparation).

Concernant les effets toxiques, certaines molécules se retrouvent partagées en inter-classement.

Excepté pour les situations accidentelles et les expositions professionnelles et compte tenu du caractère chronique des expositions, il est impossible de mesurer avec fiabilité la nature et les quantités de composés chimiques environnementaux ayant pu influencer l'organisme sur l'ensemble de sa vie et entraîner l'initiation et la promotion des cancers. Par ailleurs, alors que la situation l'exige, il est également très complexe de prédire un effet global issu d'une exposition à des molécules dont les effets biologiques simultanés sont interdépendants comme par exemple dans le cas des molécules à la fois classées mutagènes et perturbatrices endocriniennes ou pour des mélanges de résidus de médicaments.

## Exemple des molécules à effets perturbateurs endocriniens

La problématique des nano- et micropolluants à effets perturbateurs endocriniens (PE) dans l'environnement est un exemple très illustratif et particulièrement associé au thème des cancers hormono-dépendants. Les premiers travaux publiés font rapidement état de relations possibles entre les contaminations par des molécules PE et ces cancers sans toutefois pouvoir en quantifier la part de responsabilité.

La préoccupation est largement internationale et des avis officiels ont été émis par de nombreuses instances nationales ces dernières années (Conseil supérieur d'hygiène publique de France, CPP Ministère chargé de l'environnement, Académie des sciences, Programme santé environnement) et internationales (Union européenne, US *Environmental Agency* USEPA (EDSTAC), Conseil européen des industries chimiques-CEFIC, OCDE, *American Water Works Association* – AWWARF...). La commission des communautés européennes cite en 2001 au moins 124 substances suspectes prioritaires (CCE, 2001).

La problématique sur ce sujet s'est développée à partir des observations initiales réalisées dans les divers écosystèmes aquatiques sur la faune vivant en liaison directe ou indirecte avec des eaux contaminées. Que ce soit vis-à-vis des poissons, des oiseaux, des batraciens ou des mammifères, la chaîne alimentaire contaminée a provoqué des phénomènes de perturbation significatifs sur la reproduction et le développement et des malformations des organes sexuels (Campbell et Hutchinson, 1998 ; Amaral Mendes, 2002).

Même si la plupart des études ont porté sur des aspects liés à l'eau, il importe toutefois de ne pas focaliser cette thématique sur l'eau potable qui ne contribue certainement que pour une part minoritaire aux expositions humaines dans les pays développés disposant de filières de potabilisation modernes et adaptées.

Lorsque le thème de la pollution par les PE est abordé, l'eau est toujours évoquée en premier car elle est intimement associée à la vie et sa fragilité, elle est un excellent solvant, elle recueille les rejets principaux qui arrivent par les eaux d'égouts, les eaux pluviales et les lixiviats de décharge et les effets toxiques des PE sont avérés à partir de nombreuses observations réalisées sur des animaux vivant dans ou au dépend des milieux aquatiques.

Toutefois, les expositions se font également par l'alimentation ou les cosmétiques et focaliser l'attention sur l'eau comme « récepteur » permet également de faire oublier les raisons et les sources qui génèrent cette pollution des milieux naturels.

Le terme de perturbateurs endocriniens est employé depuis les années 1990 et les premières publications sur les produits organostanneux et le diéthylstilbestrol datent des années 1970-1980. Une nette augmentation du nombre de publications sur le sujet s'est produite depuis 1993-1994.

Les PE sont des substances exogènes qui, par interaction simple ou multiple avec le système endocrinien, induisent des effets nocifs sur les organismes et/ou leur descendance. Ils produisent des interactions avec la production, le stockage, le transport, la diffusion, les récepteurs, l'élimination des hormones.

Les molécules responsables sont alors définies par leur action de perturbation biologique et non par leurs familles chimiques. Étant donné qu'elles agissent à des très faibles doses dans la gamme du ppb au ppt, le cas des micropolluants est alors parfaitement concerné.

Parmi les composés PE se trouvent des contaminants d'origine naturelle (hormones, phytoestrogènes) et d'origine anthropique (phytosanitaires, résidus de médicaments, retardateurs de flamme, plastifiants, HAP, plomb, organostanneux...).

La liste de molécules à effets PE avérés est très large et ne cesse de s'agrandir. Lorsque l'on examine les molécules identifiées comme présentant des effets PE *in vitro* ou *in vivo*, il est aisé de constater que ce sont des polluants qui ont été déjà largement identifiés dans l'environnement depuis longtemps (tableau 57.I). Cette pollution est donc relativement et malheureusement classique mais ce sont les effets nouveaux identifiés qui augmentent l'inquiétude.

**Tableau 57.I : Liste incomplète de molécules identifiées comme présentant un potentiel perturbateur endocrinien**

Pesticides	Acetochlor, Alachlor, Aldrin, Allethrin, Amitrol, Atrazine, Carbaryl, Chlordane, Chlofentezine, p,p'-DDE, DDT, Dieldrin, Dicolol, Endosulfan, Éthylène thiourée, Fenarimol, Fenbuconazole, Fenitrothion, Fenvalerate, Fipronil, Heptachlor, Heptachlor epoxide, Iprodione, Kepone, Ketoconazole, Lindane, Linuron, Malathion, Mancozeb, Maneb, Methomyl, Methoxychlor, Metribuzen, Mirex, Nitrofen, Nonachlor, Oxychlordane, Pentachloronitrobenzene, Permethrine, Procymidone, Prodiamine, Pyrimethanil, Sumithrin, Tarstar, Thiazopyr, Thiram, Toxaphene, Tributylétain, Trifluralin Vinclozolin, Zineb, Ziram (T)
Divers	Butyl-hydroxyanisole, Phtalates, Benzophenone, Bisphénol A, Benzo(a)pyrene, Carbendazim, Éthane-diméthane-sulfonate, Perfluorooctane sulfonates, Alkylphénols, Resorcinol, Styrène dimères, trimères, Cd, Pb, Hg
Organohalogénés persistants	1,2-dibromoéthane, Chloroforme, Dioxines et furanes, Octachlorostyrene, PCBs, PBDEs, Pentachlorophenol, TBBPA

En complément des dangers liés au risque associé à chaque molécule individualisée, le problème des mélanges ouvre une gamme d'interrogations majeures car il est impossible de prédire sans évaluation biologique directe les éventuels effets d'addition, de synergie ou d'antagonisme entre molécules d'autant plus que certains produits sont accumulables dans le corps via notamment le squelette ou les masses grasses (Kortenkamp, 2007).

L'embryon est déjà exposé *in utero* puis subit des expositions plus ou moins massives à tous les stades de sa vie. Il n'existe pas suffisamment d'éléments permettant d'évaluer la réversibilité potentielle des effets lorsque l'exposition est réduite ou supprimée. Cette incertitude associée à la peur des cancers et des troubles sexuels et du développement fait que les consommateurs expriment, surtout dans les pays développés, une forte inquiétude vis-à-vis de ce risque.

Les PE interagissent par liaison directe aux récepteurs induisant des effets agonistes (éthinyloestradiol, nonylphenol) ou antagonistes (tamoxifen, p,p'-DDE)

ou par action indirecte par la modification de la biosynthèse, du métabolisme, de l'élimination et/ou de la disponibilité des hormones naturelles.

L'analyse de ces composés dans les compartiments environnementaux fait appel à toutes les techniques d'analyse de trace aussi bien pour les composés minéraux qu'organiques (Kuch et Ballschmitter, 2001). C'est du côté des modèles biologiques que des efforts considérables ont été effectués et restent à accomplir. *In vitro*, les essais sont menés sur des lignées cellulaires ou sur des levures avec ou sans transformations pour mesurer l'affinité sur les récepteurs nucléaires aux hormones, la transcription ou la prolifération cellulaire (Jugan et coll., 2007). *In vivo*, les tests sont réalisés sur mammifères, poissons, oiseaux, reptiles, amphibiens, invertébrés (Ankley et coll., 1998 ; Andersen et coll., 1999). Les mesures portent par exemple sur le développement, la maturation et la malformation des organes génitaux, la reproduction, les quantités d'hormones circulantes ou la production de vitellogénine. L'OCDE coordonne les actions de normalisation pour définir les meilleurs modèles *in vivo* permettant l'évaluation des effets PE.

La majorité des études porte sur les perturbateurs estrogéniques mais la littérature est très limitée sur les autres systèmes endocriniens et en particulier celui lié aux hormones thyroïdiennes.

Concernant les mélanges de molécules, des études suggèrent de considérer plutôt une additivité des effets qu'une réelle synergie. Néanmoins, les auteurs soulignent l'importance de cette approche toxicologique nouvelle délicate et complexe qui nécessite un véritable investissement indispensable (Kortenkamp et Alenburger, 1999 ; Cizmas et coll., 2004 ; Monosson, 2005).

**Tableau 57.II : Exemples de familles de molécules à effets perturbateurs endocriniens et de leurs sources potentielles de diffusion dans l'environnement**

Famille chimique	Sources potentielles	Exemples
Phtalates	Plastiques, cosmétiques	Dibutyl phtalate
Alkylphénols	Détergents, plastiques, pesticides	Nonylphenol
Retardateurs de flamme	Mousses pour les mobiliers, tapis, équipements électroniques	Polybromodiphényles (PBDE)
Hydrocarbures aromatiques polycycliques	Sources de combustion : fumée de cigarette, émissions des moteurs diesels, incendies	Benzo(a)pyrène
Polychlorobiphényles	Transformateurs électriques	PCB, Arochlor
Anciens pesticides	Résiduels de stockage, pollution rémanente	DDT, dieldrine, chlordane
Pesticides actuels	Agriculture, nettoyages urbains, jardins particuliers	Voir liste tableau 56.I
Dérivés phénoliques	Désinfectants, plastiques, cosmétiques	Bisphénols A, parabens, halogéno-phénols



La gestion d'un tel risque passe par un ensemble de mesures très souvent évoquées mais longues à mettre en place au niveau international. Ces mesures portent sur la réduction des intrants végétaux, la protection des denrées alimentaires et de l'eau potable contre les substances relarguées par les emballages et contenants (tableau 57.II). Des précautions doivent être prises vis-à-vis de la fabrication des jouets, des objets en contact avec la bouche, des vêtements, des matériels médicaux contre tout risque de diffusion de substances indésirables.

**En conclusion**, excepté dans le cas des radioéléments ou dans des situations de contamination massive ponctuelle, il n'est pas possible, en l'état des connaissances de décrire avec précision et de quantifier les liens entre la présence de mélanges de micropolluants dans les différents compartiments de l'environnement et l'apparition des divers cancers auxquels se consacre ce travail. Face à l'ensemble des questions posées et aux lacunes en matière d'évaluation des risques liés à l'exposition aux mélanges de faibles doses de nano et micropolluants sur une vie entière, un défi majeur est posé à l'ensemble de la chaîne de l'évaluation des risques et aux responsables en charge de la mise en œuvre des politiques de gestion.

## BIBLIOGRAPHIE

AMARAL MENDES JJ. The endocrine disruptors: a major medical challenge. *Food Chem Toxicol* 2002, **40** : 781-788

ANDERSEN HR, ANDERSSON AM, ARNOLD SF, AUTRUP H, BARFOED M, et coll. Comparison of short-term estrogenicity tests for identification of hormone-disrupting chemicals. *Environm Health Persp* 1999, **107** : 89-108

ANKLEY G, MIHAICH E, STAHL R, TILLITT D, COLBORN T, et coll. Overview of a workshop on screening methods for detecting potential (anti-) extrogenic chemicals in wildlife. *Environ Toxicol Chem* 1998, **17** : 68-87

CAMPBELL PM, HUTCHINSON TH. Wildlife and endocrine disruptors: requirements for hazard identification. *Environm Toxicol Chem* 1998, **17** : 127-135

CCE (COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES). Communication sur la mise en oeuvre de la stratégie communautaire concernant les perturbateurs endocriniens. COIM (2001) 262 final

CIZMAS L, MCDONALD TJ, PHILLIPS TD, GILLESPIE AM, LINGENFELTER RA, et coll. Toxicity characterization of complex mixtures using biological and chemical analysis in preparation for assessment of mixture similarity. *Environm Sci Technol* 2004, **38** : 5127-5133

JUGAN ML, LÉVY-BIMBOT M, POMÉRANCE M, TAMISIER-KAROLAK S, BLONDEAU JP, LÉVI Y. A new bioluminescent cellular assay to measure the transcriptional effects of

chemicals that modulate the alpha-1 thyroid hormone receptor. *Toxicol In Vitro* 2007, 21 : 1197-1205

KORTENKAMP A. Ten years of mixing cocktails - a review of combination effects of endocrine disrupting chemicals. *Environm Health Persp* 2007, 115 (suppl 1) : 98-105

KORTENKAMP A, ALTENBURGER R. Approaches to assessing combination effects of oestrogenic environmental pollutants. *Sci Tot Environm* 1999, 233 : 131-140

KUCH HM, BALLSCHMITER K. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCl)-MS in the picogram per liter range. *Environm Sci Technol* 2001, 35 : 3201-3206

MONOSSON E. Chemical mixtures: considering the evolution of toxicology and chemical assessment. *Environm Health Persp* 2005, 113 : 383-390

PICHON V, DELAUNAY-BERTONCINI N, HENNION MC. Dernières évolutions dans la préparation d'échantillons liquides pour l'analyse par chromatographie en phase liquide. *Spectra Anal* 2001, 221 : 16-21

PREVEDOUROS K, JONES KC, SWEETMAN AJ. Estimation of the production, consumption, and atmospheric emissions of pentabrominated diphenyl ether in Europe between 1970 and 2000. *Environ Sci Technol* 2004, 38 : 3224-3231